

**Arrangement for investigating microscopic preparations, has optical component between scanning laser and imaging optical arrangement to spectrally expand laser light during single pass**

**Patent number:** DE10115488

**Publication date:** 2001-12-20

**Inventor:** STORZ RAFAEL (DE); ENGELHARDT JOHANN (DE);  
MOELLMANN KYRA (DE)

**Applicant:** LEICA MICROSYSTEMS (DE)

**Classification:**

**- international:** G02B6/122; G02B6/255; G02B21/00; G02B21/06;  
G02B27/00; H01S3/00; H01S3/16; G02B6/122;  
G02B6/255; G02B21/00; G02B21/06; G02B27/00;  
H01S3/00; H01S3/16; (IPC1-7): G02B21/06; G02B6/00;  
G02B23/24; G02B27/00; G02F1/11; G02F2/02;  
G03F7/20

**- european:** G02B6/122P; G02B6/255K; G02B21/00M4;  
G02B21/00M4A3; G02B21/00M4A7C;  
G02B21/00M4A7M; G02B21/00M4A7U;  
G02B21/00M4A9; G02B21/06; G02B27/00L; Y01N10/00

**Application number:** DE20011015488 20010329

**Priority number(s):** DE20011015488 20010329; DE20001030013 20000617

**Also published as:**



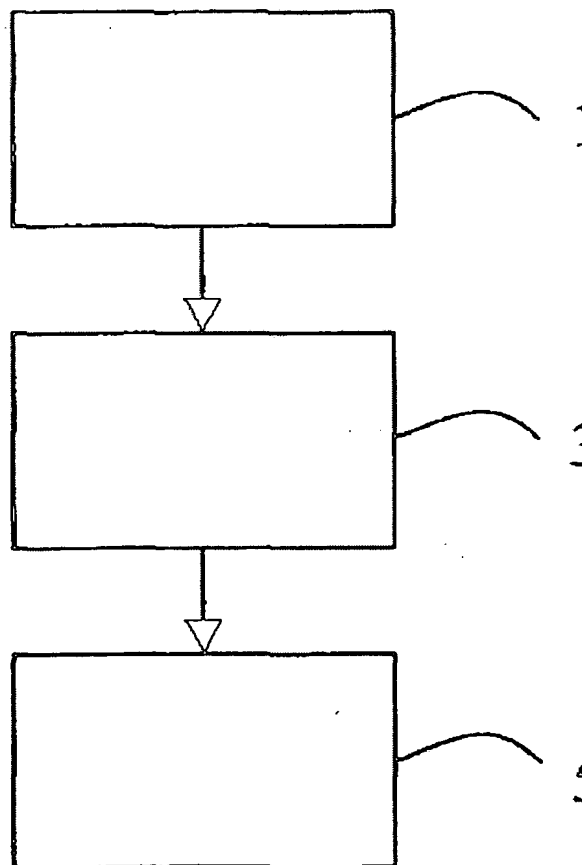
EP1164406 (A2)  
US6796699 (B2)  
US2002006264 (A)  
JP2002098896 (A)  
EP1164406 (A3)

BEST AVAILABLE COPY

**Report a data error he**

#### Abstract of DE10115488

The arrangement has a scanning microscope and contains a laser (10) and an optical arrangement (12) that forms an image of the light from the laser onto the specimen (13) under investigation. An optical component (3) is arranged between the laser and the optical arrangement to spectrally expand the laser light during a single pass through. Independent claims are also included for the following: a scanning microscope and an illumination arrangement for a scanning microscope.



---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

12 **Offenlegungsschrift**  
10 **DE 101 15 488 A 1**

21 Aktenzeichen: 101 15 488.7  
22 Anmeldetag: 29. 3. 2001  
43 Offenlegungstag: 20. 12. 2001

51 Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**G 02 B 21/06**  
G 02 B 6/00  
G 02 F 2/02  
G 02 B 27/00  
G 02 B 23/24  
G 03 F 7/20  
G 02 F 1/11

DE 101 15 488 A 1

66 Innere Priorität:  
100 30 013. 8 17. 06. 2000

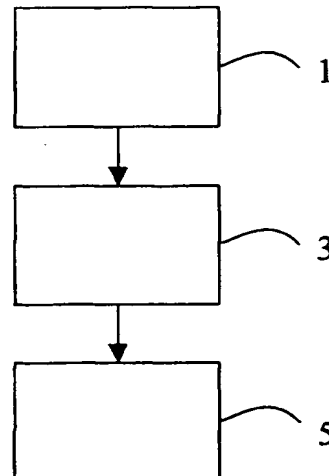
71 Anmelder:  
Leica Microsystems Heidelberg GmbH, 68165  
Mannheim, DE

72 Erfinder:  
Storz, Rafael, Dr., 69245 Bammental, DE;  
Engelhardt, Johann, Dr., 76669 Bad Schönborn, DE;  
Möllmann, Kyra, Dr., 67705 Trippstadt, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54 Verfahren und Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts

57 Ein Verfahren zur Beleuchtung eines Objekts (79) ist offenbart, das durch die Schritte des Einstrahlens (1) des Lichtstrahls (13) eines Lasers (9) in ein mikrostrukturiertes optisches Element (19), das das Licht des Lichtstrahls (13) spektral verbreitert, des Formens (3) des spektral verbreiterten Lichts (31) zu einem Beleuchtungslichtstrahl (29) und des Richtens (5) des Beleuchtungslichtstrahls (29) auf das Objekt (79) gekennzeichnet ist. Weiterhin ist eine Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eines Objekts (79), die einen Laser (9) umfasst, der einen Lichtstrahl (13) emittiert, der auf ein mikrostrukturiertes optischen Element (19) gerichtet ist, das das Licht des Lasers spektral verbreitert, offenbart. Dem mikrostrukturierten optischen Element (19) ist eine Optik (33) nachgeordnet, die das spektral verbreiterte Licht (31) zu einem Beleuchtungslichtstrahl (29) formt.



DE 101 15 488 A 1

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Beleuchtung eines Objektes.

[0002] Weiterhin betrifft die Erfindung eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts.

[0003] Aus der Offenlegungsschrift DE 198 53 669 A1 ist eine Ultrakurzpulsquelle mit steuerbarer Mehrfachwellenlängenausgabe offenbart, die insbesondere in einem Multiphotonenmikroskop Anwendung findet. Das System weist einen Ultrakurzimpuls laser zur Erzeugung ultrakurzer optischer Impulse einer festen Wellenlänge und zumindest einen Wellenlängenumwandlungskanal auf.

[0004] Die Patentschrift US 6,097,870 offenbart eine Anordnung zur Generierung eines Breitbandspektrums im sichtbaren und infraroten Spektralbereich. Die Anordnung basiert auf einer mikrostrukturierten Faser, in die das Licht eines Pumplasers eingekoppelt wird. Das Pumplicht wird in der mikrostrukturierten Faser durch nichtlineare Effekte verbreitert. Als mikrostrukturierte Faser findet auch sog. Photonic-Band-Gap-Material oder "photonic crystal fibres", "holey fibers" oder "microstructured fibers" Verwendung. Es sind auch Ausgestaltungen als sog. "Hollow fiber" bekannt.

[0005] Eine weitere Anordnung zur Generierung eines Breitbandspektrums ist in der Veröffentlichung von Birks et al.: "Supercontinuum generation in tapered fibers", Opt. Lett. Vol. 25, p. 1415 (2000), offenbart. In der Anordnung wird eine herkömmliche Lichtleitfaser mit einem Faserkern, die zumindest entlang eines Teilstücks eine Verjüngung aufweist verwendet. Lichtleitfasern dieser Art sind als sog. "tapered fibers" bekannt.

[0006] Aus der PCT-Anmeldung mit der Publikationsnummer WO 00/04613 ist ein optischer Verstärker bekannt, dessen Verstärkung in Abhängigkeit von der Wellenlänge einstellbar ist. Ferner ist in der genannten Publikation eine auf diesem Prinzip beruhende Faserlichtquelle offenbart.

[0007] Bogenlampen sind als breitbandige Lichtquellen bekannt und werden in vielen Bereichen verwendet. Exemplarisch sei hier die US-Patentschrift 3,720,822 "XENON PHOTOGRAPHY LIGHT" genannt, die eine Xenon-Bogenlampe zur Beleuchtung in der Fotografie offenbart.

[0008] Insbesondere in der Mikroskopie, der Endoskopie, der Flußzytometrie, der Chromatographie und in der Lithographie sind zur Beleuchtung der Objekte universelle Beleuchtungseinrichtungen mit hoher Leuchtdichte wichtig. In der Scannmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl abgerastert. Hierzu werden oft Laser als Lichtquelle eingesetzt. Aus der EP 0 495 930: "Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz" ist beispielsweise ein Anordnung mit einem einzelnen mehrere Laserlinien emittierenden Laser bekannt. Derzeit werden hierfür meist Mischgaslaser, insbesondere ArKr-Laser, eingesetzt. Als Probe werden beispielsweise mit Fluoreszenzfarbstoffen präparierte, biologische Gewebe oder Schnitte untersucht. Im Bereich der Materialuntersuchung wird oft das von der Probe reflektierte Beleuchtungslicht detektiert. Auch Festkörperlaser und Farbstofflaser, sowie Faserlaser und Optisch-Parametrische-Oszillatoren (OPO), denen ein Pumplaser vorgeordnet ist, werden häufig verwendet.

[0009] Mikrosplotarrays oder sog. Microplates werden in der Gen-, Medizin- und Bidiagnostik zur Untersuchung großer Anzahlen von spezifisch markierten Spots, die vorzugsweise gitterförmig aufgebracht sind, verwendet. Ein sowohl in der Anregungs-, als auch in der Detektionswellenlänge einstellbarer Microplate-Reader ist in der europäischen Patentanmeldung EP 0 841 557 A2 offenbart.

[0010] Die aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren zur Beleuchtung und Beleuchtungsvorrichtungen haben

mehrere Nachteile. Die bekannten breitbandigen Beleuchtungsvorrichtungen weisen meist eine im Vergleich zu laserbasierenden Beleuchtungseinrichtungen geringe Leuchtdichte auf, während diese dem Benutzer nur diskrete Wellenlängenlinien zur Verfügung stellen, deren spektrale Lage und Breite, wenn überhaupt, nur in geringem Maße einstellbar ist. Durch diese Begrenzung des Arbeitsspektrums sind die bekannten Beleuchtungseinrichtungen nicht flexibel einsetzbar. Laserbasierende Beleuchtungseinrichtungen und Beleuchtungsverfahren haben darüber hinaus den Nachteil, dass durch die hohe Kohärenz des Laserlichtes störende Interferenzerscheinungen, wie beispielsweise Beugungsringe und Newtonringe, auftreten. Oft werden zur Reduzierung dieser Interferenzeffekte zusätzliche optische Elemente eingesetzt, die die Lichtleistung durch Eigenabsorption und Streuung reduzieren.

[0011] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Beleuchtung eines Objektes zu schaffen, das die aufgezeigten Nachteile und Probleme vermeidet bzw. löst.

[0012] Die objektive Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das durch folgende Schritte gekennzeichnet ist:

- Einstrahlen des Lichts eines Lasers in ein mikrostrukturiertes optisches Element, dass das Licht spektral verbreitert,
- Formen des von dem mikrostrukturierten optischen Element ausgehenden Lichts zu einem Beleuchtungslichtstrahl und
- Richten des Beleuchtungslichtstrahles auf das Objekt.

[0013] Es ist weiterhin Aufgabe der Erfindung eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objektes anzugeben, die universell einsetzbar und flexibel ist, darüber hinaus ein breites Wellenlängenspektrum bei gleichzeitig hoher Leuchtdichte zur Verfügung stellt und außerdem möglichst Interferenzerscheinungen vermeidet.

[0014] Die objektive Aufgabe wird durch eine Vorrichtung gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass die Vorrichtung einen Laser umfasst, der einen Lichtstrahl emittiert, der auf ein mikrostrukturiertes optisches Element gerichtet ist, dass das Licht des Lasers spektral verbreitert, und dass dem mikrostrukturierten optischen Element eine Optik nachgeordnet ist, die das spektral verbreiterte Licht zu einem Beleuchtungslichtstrahl formt.

[0015] Die Erfindung hat den Vorteil, dass sie universell einsetzbar, leicht zu handhaben und flexibel ist, und darüber hinaus eine Beleuchtung mit Licht aus einem breiten Wellenlängenbereich bietet. Das Licht weist außerdem eine sehr geringe Kohärenz auf, wodurch störende Interferenzerscheinungen vermieden sind.

[0016] Durch die Verwendung von mikrostrukturierten Fasern, wie es in der bereits erwähnten US-Patentschrift 6,097,870 oder in der Veröffentlichung von Birks et al. beschrieben ist, wird ein breites kontinuierliches Wellenlängenspektrum zugänglich. Anordnungen der offenbarten Art sind jedoch insbesondere auf Grund der Komplexität der einzelnen optischen Komponenten und deren Justierung zueinander umständlich zu handhaben, unflexibel und störungsanfällig.

[0017] Von besonderem Vorteil ist eine Ausgestaltungsvariante in der dem mikrostrukturierten optischen Element eine Optik nachgeordnet ist, die das spektral verbreiterte Licht zu einem Strahl formt. Diese Optik befindet sich vorzugsweise innerhalb eines Gehäuses, das die gesamte Vorrichtung beherbergt, unmittelbar vor oder in einer Lichtaustrittsöffnung. Bei der Optik handelt es sich vorzugsweise um eine Variooptik mit der verschiedene divergente, kollimierte

oder konvergente Strahlformen erzeugbar sind.

[0018] Als Laser sind alle gängigen Lasertypen verwendbar. In einer bevorzugten Ausgestaltung ist der Laser ein Kurzpulslaser, beispielsweise ein modenverkoppelter Festkörperlaser, der Lichtpulse einer Dauer von 100 fs bis 10 ps emittiert. Die Wellenlänge des Lasers ist vorzugsweise der "Nulldispersionswellenlänge" der Faser angepasst sein, oder umgekehrt. Scheinbar kann man die Nulldispersionswellenlänge über einen bestimmten Wellenlängenbereich "schieben", was beim Ziehen der Faser berücksichtigt werden muss.

[0019] Besonders bevorzugt ist eine Ausführungsform der Beleuchtungseinrichtung, die eine Vorrichtung zur Variierung der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes beinhaltet. Ganz besonders vorteilhaft ist es hierbei, die Beleuchtungseinrichtung derart auszugestalten, dass die Leistung des spektral verbreiterten Lichtes bezüglich mindestens einer auswählbaren Wellenlänge oder mindestens eines auswählbaren Wellenlängenbereichs variiert oder vollständig ausblendbar ist.

[0020] Vorzugsweise ist eine Vorrichtung zur Variierung der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes vorgesehen. Dies sind beispielsweise akustooptische oder elektrooptische Elemente, wie akustooptische, einstellbare Filter (acousto optical tunable filter, AOTF). Ebenso sind dielektrische Filter oder Farbfilter verwendbar, die vorzugsweise kaskadiert angeordnet sind. Eine besondere Flexibilität wird dadurch erreicht, dass die Filter in Revolvern oder in Schiebefassungen angebracht sind, die ein leichtes Einbringen in den Strahlengang des spektral verbreiterten Lichtes ermöglichen.

[0021] Ganz besonders vorteilhaft ist eine Ausgestaltung, die ein Auswählen mindestens eines Wellenlängenbereichs aus dem spektral verbreiterten Licht erlaubt, wobei das Licht des ausgewählten Wellenlängenbereichs auf das Objekt gerichtet wird. Dies kann beispielsweise mit einer Vorrichtung realisiert sein, die das spektral verbreiterte Licht räumlich spektral aufzuspalten, um mit einer geeigneten variablen Blenden- oder Filteranordnung spektrale Anteile zu unterdrücken oder ganz auszublenden und anschließend die verbliebenen Spektralanteile wieder zu einem Strahl zu vereinigen. Zur räumlich spektralen Aufspaltung ist beispielsweise ein Prisma oder ein Gitter verwendbar.

[0022] Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst in einer speziellen Ausgestaltung den weiteren Schritt des Einstellens der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes. Zur Variierung der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes ist in einer weiteren Ausführungsvariante ein Fabry-Perot-Filter vorgesehen. Auch LCD-Filter sind einsetzbar.

[0023] In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltungsvariante umfasst das Verfahren zur Beleuchtung den zusätzlichen Schritt des Einstellens der spektralen Zusammensetzung des spektral verbreiterten Lichtes.

[0024] Besonders vorteilhaft ist eine Ausführungsform, die direkt ein Bedienelement zur Einstellung der Lichtleistung und der spektralen Zusammensetzung des spektral verbreiterten Lichtes aufweist. Dies kann ein Bedienpult oder ein PC sein. Die Einstelldaten werden vorzugsweise in Form von elektrischen Signalen an die Vorrichtung zur Beleuchtung bzw. an die Vorrichtung zur Variierung der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes übertragen. Besonders anschaulich ist die Einstellung über Schieber (Slider), die auf einem Display eines PCs angezeigt sind und beispielsweise mit einer Computermouse bedient werden.

[0025] Erfindungsgemäß ist erkannt worden, dass die Divergenz des in das mikrostrukturierte optische Element eingestrahnten Lichtes erheblichen Einfluss auf die spektrale Verteilung des spektral verbreiterten Lichtes hat. In einer be-

sonders bevorzugten und flexiblen Ausgestaltung beinhaltet die Vorrichtung zur Beleuchtung eine Fokussieroptik, die den Lichtstrahl des Lasers auf das mikrostrukturierte optische Element fokussiert. Besonders vorteilhaft ist eine Ausführung der Fokussieroptik als Variooptik, beispielsweise als Zoomoptik.

[0026] Da die spektrale Verteilung des spektral verbreiterten Lichtes von der Polarisierung und der Wellenlänge des in das mikrostrukturierte optische Element eingestrahnten Lichtes abhängt, sind in einer besonderen Ausgestaltungsform Vorrichtungen zur Einstellung und Beeinflussung dieser Parameter vorgesehen. Bei Lasern, die linear polarisiertes Licht emittieren, wird eine drehbar gelagerte  $\lambda/2$ -Platte zur Drehung der Polarisationssebene verwendet. Etwas aufwendiger, jedoch auch flexibler, ist die Verwendung einer Pockelszelle, die die Einstellung auch jeder beliebigen elliptischen Polarisierung erlaubt, oder eines Faradayrotators. Zur Einstellung der Wellenlänge ist vorzugsweise im Laser eine doppelbrechende Platte oder ein kippbares Etalon vorgesehen.

[0027] In einer besonderen Ausgestaltung ist eine Vorrichtung vorgesehen, die eine Analyse des in der Wellenlänge verbreiterten Lichtes insbesondere hinsichtlich der spektralen Zusammensetzung und der Lichtleistung ermöglicht. Die Analysevorrichtung ist derart angeordnet, dass ein Teil des spektral verbreiterten Lichtes beispielsweise mit Hilfe eines Strahlteilers abgespalten und der Analysevorrichtung zugeführt wird. Die Analysevorrichtung ist vorzugsweise ein Spektrometer. Sie enthält beispielsweise ein Prisma oder ein Gitter zur räumlich spektralen Aufspaltung und ein CCD-Element oder einen Mehrkanalphotomultiplier als Detektor. In einer anderen Variante beinhaltet die Analysevorrichtung einen Multibanddetektor. Auch Halbleiterspektrometer sind verwendbar.

[0028] Zur Feststellung der Leistung des spektral verbreiterten Lichtes sind die Detektoren derart ausgestaltet, dass ein zur Lichtleistung proportionales elektrisches Signal erzeugt wird, das von einer Elektronik oder einem Computer auswertbar ist.

[0029] Ganz besonders vorteilhaft ist die Ausführungsform, die eine Anzeige für die Leistung des spektral verbreiterten Lichtes und/oder für die spektrale Zusammensetzung des spektral verbreiterten Lichtes beinhaltet. Die Anzeige ist vorzugsweise direkt an dem Gehäuse oder dem Bedienpult angebracht. In einer anderen Ausführungsform dient das Display eines PCs zur Anzeige der Leistung bzw. der spektralen Zusammensetzung.

[0030] In einer weiteren Ausgestaltung umfasst das erfindungsgemäße Verfahren den Schritt des Einstellens der Polarisierung des spektral verbreiterten Lichtes. Hierzu ist ein drehbar angeordneter Polarisationsfilter, eine  $\lambda/2$ -Platte oder eine Pockelszelle oder ein Faradayrotator vorgesehen.

[0031] In einer sehr bevorzugten Ausführungsform ist der Laser ein Pulslaser, der vorzugsweise Lichtpulse einer Pulsenergie, die größer als 1 nJ ist, emittiert. Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst in Bezug auf diese Ausgestaltung den zusätzlichen Schritt des Einstellens der Pulsbreite des spektral verbreiterten Lichtes. Weiterhin ist es von Vorteil, wenn das Verfahren den weiteren Schritt des Einstellens des Chirps des spektral verbreiterten Lichtes ermöglicht. Durch diese zusätzlichen Schritte sind die Pulseigenschaften des auf das Objekt gerichteten Lichtes individuell auf das jeweilige Objekt anpassbar. Unter Chirp ist die zeitliche Abfolge des Lichtes unterschiedlicher Wellenlängen innerhalb eines Pulses zu verstehen. Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfasst hierzu vorzugsweise eine Prismen- oder Gitteranordnung, die in ganz bevorzugter Ausgestaltung mit einem LCD-Streifengitter kombiniert ist. Anordnungen zur Variie-

rung der Pulsdauer und des Chirps sind einem Fachmann hinlänglich bekannt.

[0032] Das Verfahren und die Vorrichtung zur Beleuchtung ist ganz besonders für die Beleuchtung eines mikroskopischen Objekts, insbesondere in einem Mikroskop, einem Videomikroskop, einem Scanmikroskop oder konfokalen Scanmikroskop, einsetzbar. Von ganz besonderem Vorteil ist es, dass die Wellenlänge des auf das Objekt gerichteten Lichtes bei Fluoreszenzanwendungen oder Anwendungen die auf dem Förstertransfer beruhen, genau der Anregungswellenlänge der im Objekt vorhandenen Fluorochrome angepasst wird.

[0033] Auch in der Endoskopie, der Flußzytometrie und in der Lithographie ist das Verfahren und die Vorrichtung zur Beleuchtung ganz besonders vorteilhaft einsetzbar.

[0034] Das mikrostrukturierte optische Element ist in einer bevorzugten Ausgestaltung des Scanmikroskops aus einer Vielzahl von mikrooptischen Strukturelementen aufgebaut, die zumindest zwei unterschiedliche optische Dichten aufweisen. Ganz besonders bevorzugt ist eine Ausgestaltung, bei der das optische Element einen ersten Bereich und einen zweiten Bereich beinhaltet, wobei der erste Bereich eine homogene Struktur aufweist und in dem zweiten Bereich eine mikroskopische Struktur aus mikrooptischen Strukturelementen gebildet ist. Von Vorteil ist es außerdem, wenn der erste Bereich den zweiten Bereich umschließt. Die mikrooptischen Strukturelemente sind vorzugsweise Kanülen, Stege, Waben, Röhren oder Hohlräume.

[0035] Das mikrostrukturierte optische Element besteht in einer anderen Ausgestaltung aus nebeneinander angeordnetem Glas- oder Kunststoffmaterial und Hohlräumen. Besonders zu bevorzugen ist die Ausführungsvariante, bei der das mikrostrukturierte optische Element aus Photonic-Band-Gap-Material besteht und als Lichtleitfaser ausgestaltet ist. Vorzugsweise ist zwischen dem Laser und der Lichtleitfaser eine optische Diode vorgesehen, die Rückreflexionen des Lichtstrahles die von, den Enden der Lichtleitfaser herrühren, unterdrückt.

[0036] Eine ganz besonders bevorzugte und einfach zu realisierende Ausführungsvariante beinhaltet als mikrostrukturiertes optisches Element eine herkömmliche Lichtleitfaser mit einem Faserkerndurchmesser von ca. 9 µm, die zumindest entlang eines Teilstücks eine Verjüngung aufweist. Lichtleitfasern dieser Art sind als sog. "tapered fibers" bekannt. Vorzugsweise ist die Lichtleitfaser insgesamt 1 m lang und weist eine Verjüngung auf einer Länge von 30 mm bis 90 mm auf. Der Durchmesser der Lichtleitfaser beträgt in einer bevorzugten Ausgestaltung im Bereich der Verjüngung ca. 2 µm. Der Faserkerndurchmesser liegt entsprechend im Nanometerbereich.

[0037] In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

[0038] Fig. 1 einen Ablaufplan des erfindungsgemäßen Verfahrens,

[0039] Fig. 2 eine erfindungsgemäße Beleuchtungseinrichtung mit einem Leistungsmesser und einer Anzeige,

[0040] Fig. 3 die exemplarisch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem konfokalen Scanmikroskop,

[0041] Fig. 4 eine Ausführung des mikrostrukturierten optischen Elements und

[0042] Fig. 5 eine weitere Ausführung des mikrostrukturierten optischen Elements.

[0043] Fig. 1 zeigt einen Ablaufplan des erfindungsgemäßen Verfahrens. In einem ersten Schritt erfolgt das Einstrahlen 1 des Lichtes eines Lasers in ein mikrostrukturiertes optisches Element, dass das Licht spektral verbreitert. Hierbei

wird das Licht beispielsweise mit Hilfe von Spiegeln zu dem mikrostrukturierten optischen Element geleitet und vorzugsweise mit einer Variooptik auf das mikrostrukturierte optische Element fokussiert. In einem zweiten Schritt erfolgt das Formen 3 des von dem mikrostrukturierten optischen Element ausgehenden Lichts zu einem Beleuchtungslichtstrahl vorzugsweise mit Hilfe von kollimierenden Optiken, die als Linsensysteme ausgestaltet sind. In einem weiteren Schritt erfolgt Richten 5 des Beleuchtungslichtstrahles auf das Objekt.

[0044] Fig. 2 zeigt eine Vorrichtung zur Beleuchtung 7 die einen Laser 9 beinhaltet, der als modengekoppelter Ti : Saphir-Laser 11 ausgeführt ist und der einen Lichtstrahl 13, der gestrichelt gezeichnet ist, mit der Eigenschaft eines optischen Pulszugs emittiert. Die Dauer der Lichtimpulse beträgt ca. 100 fs bei einer Repetitionsrate von ca. 80 MHz. Der Lichtstrahl 13 wird mit der Fokussieroptik 15, die als Zoomoptik 17 ausgestaltet und entlang der Fortpflanzungsrichtung des Lichtstrahles verschiebbar angeordnet ist, auf ein mikrostrukturiertes optisches Element 19 fokussiert. Das mikrostrukturierte optische Element 19 besteht aus einer, eine Verjüngung 21 aufweisenden Lichtleitfaser 23. In dem mikrostrukturierten optischen Element wird das Licht des Lasers spektral verbreitert. Alle Komponenten befinden sich in einem Gehäuse 25 mit einer Lichtaustrittsöffnung 27, durch die der Beleuchtungslichtstrahl 29, als divergent verlaufender Strahl, das Gehäuse 25 verlässt. Das Spektrum des spektral verbreiterten Lichts 31 reicht von etwa 300 nm bis 1600 nm, wobei die Lichtleistung über das gesamte Spektrum weitgehend konstant ist. Das aus der Lichtleitfaser 23 austretende, spektral verbreiterte Licht 31, wird mit Hilfe der Optik 33 zu dem kollimierten Beleuchtungslichtstrahl 29 geformt. Mit dem Strahlteiler 35 wird ein Teillichtstrahl 37 des Beleuchtungslichtstrahls 29 abgespalten und auf eine Analysevorrichtung 39 gelenkt. Diese beinhaltet ein Prisma 41, das den Teillichtstrahl 37 räumlich spektral zu einem in der Auffächerungsebene divergent verlaufenden Lichtbündel 43 auffächert, und eine Photodiodenzeile 45 zur Detektion des Lichtes. Die Photodiodenzeile 45 erzeugt zur Leistung des Lichtes des jeweiligen Spektralbereichs proportionale elektrische Signale, die einer Verarbeitungseinheit 47 zugeführt werden. Diese ist mit einem PC 49 verbunden, auf dessen Monitor 51 die spektrale Zusammensetzung in Form eines Graphen 53 innerhalb eines Koordinatensystems mit zwei Achsen 55, 57 angezeigt wird. An der Achse 55 ist die Wellenlänge aufgetragen und an der Achse 57 die Leistung des Lichtes. Durch Anklicken des Graphen 53 mittels einer Computermaus 59 bei gleichzeitigem Verschieben der Computermaus 59 wird ein gestrichelter Graph 61 erzeugt, der entsprechend der Bewegung der Computermaus 59 verformbar ist. Im Augenblick eines erneuten Klickens mit der Computermaus 59 wird über den Computer 49 eine Vorrichtung zur Variierung der Leistung 63 derart angesteuert, dass sich die mit dem gestrichelten Graphen 61 vorgewählte spektrale Zusammensetzung ergibt. Die Vorrichtung zur Variierung der Leistung 63 des spektral verbreiterten Lichtes 31 ist als AOTF 65 (acousto optical tunable filter) ausgeführt und derart ausgestaltet, dass Wellenlängen unabhängig voneinander beeinflusst werden, und so die spektrale Zusammensetzung des spektral verbreiterten Lichts 31 einstellbar ist. Außerdem ist eine Steuerung der Ausgangsleistung des Lasers 9 über den Computer vorgesehen. Der Benutzer nimmt Einstellungen mit Hilfe der Computermaus 59 vor. Auf dem Monitor 51 ist ein Slider 67 dargestellt, der zur Einstellung der Gesamtleistung des spektral verbreiterten Lichtes 31 dient.

[0045] Fig. 3 stellt exemplarisch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem konfokalen Scanmi-

kroskop 69 dar. Der von der Vorrichtung zur Beleuchtung 7 kommende Beleuchtungslichtstrahl 29 wird von einem Strahlteiler 71 zum Scanmodul 73 reflektiert, das einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 75 beinhaltet, der den Lichtstrahl 29 durch die Mikroskopoptik 77 hindurch über bzw. durch das Objekt 79 führt. Der Beleuchtungslichtstrahl 29 wird bei nicht transparenten Objekten 79 über die Objektoberfläche geführt. Bei biologischen Objekten 79 oder transparenten Objekten 79 kann der Beleuchtungslichtstrahl 29 auch durch das Objekt 79 geführt werden. Dies bedeutet, dass verschiedene Fokusebenen des Objekts 79 nacheinander mit dem Beleuchtungslichtstrahl 29 beleuchtet und somit abgetastet werden. Die nachträgliche Zusammensetzung ergibt dann ein dreidimensionales Bild des Objekts 79. Der von der Vorrichtung zur Beleuchtung 7 kommende Lichtstrahl 29 ist in der Abbildung als durchgezogene Linie dargestellt. Das vom Objekt 79 ausgehende Licht 81 gelangt durch die Mikroskopoptik 77 und über das Scanmodul 73 zum Strahlteiler 71, passiert diesen und trifft auf Detektor 83, der als Photomultiplier ausgeführt ist. Das vom Objekt 79 ausgehende Licht 81 ist als gestrichelte Linie dargestellt. Im Detektor 83 werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt 79 ausgehenden Lichtes 81 proportionale Detektionssignale erzeugt und weiterverarbeitet. Das bei einem konfokalen Scanmikroskop üblicherweise vorgesehene Beleuchtungspinhole 85 und das Detektionspinhole 87 sind der Vollständigkeit halber schematisch eingezeichnet. Weggelassen sind wegen der besseren Anschaulichkeit hingegen einige optische Elemente zur Führung und Formung der Lichtstrahlen. Diese sind einem auf diesem Gebiet tätigen Fachmann hinlänglich bekannt.

[0046] Fig. 4 zeigt eine Ausführung des mikrostrukturierten optischen Elements 19. Dieses besteht aus Photonic-Band-Gap-Material, das eine besondere wabenförmige Mikrostruktur 89 aufweist. Die gezeigte Wabenstruktur ist für die Generierung von breitbandigem Licht besonders geeignet. Der Durchmesser der Glasinnenkanüle 91 beträgt ca. 1,9 µm. Die innere Kanüle 91 ist von Glasstegen 93 umgeben. Die Glasstege 93 formen wabenförmige Hohlräume 95. Diese mikrooptischen Strukturelemente bilden gemeinsam einen zweiten Bereich 97, der von einem ersten Bereich 99, der als Glasmantel ausgeführt ist, umgeben ist.

[0047] Fig. 5 zeigt schematisch eine Ausführung des mikrostrukturierten optischen Elements 19. In dieser Ausführung besteht das mikrostrukturierte optische Element 19 aus einer herkömmlichen Lichtleitfaser 101 mit einem Außendurchmesser von 125 µm und einem Faserkern 103, der einen Durchmesser von 6 µm aufweist. Im Bereich einer 300 mm langen Verjüngung 105 ist der Aussendurchmesser der Lichtleitfaser 101 auf 1,8 µm reduziert. In diesem Bereich beträgt der Durchmesser des Faserkerns 103 nur noch Bruchteile von Mikrometern.

[0048] Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

#### Bezugszeichenliste

1 Einstrahlen  
3 Formen  
5 Richten  
7 Vorrichtung zur Beleuchtung  
9 Laser  
11 Ti : Saphir-Laser  
13 Lichtstrahl  
15 Fokussieroptik

17 Zoomoptik  
19 mikrostrukturiertes optisches Element  
21 Verjüngung  
23 Lichtleitfaser  
25 Gehäuse  
27 Lichtaustrittsöffnung  
29 Beleuchtungslichtstrahl  
31 spektral verbreitertes Licht  
33 Optik  
35 Strahlteiler  
37 Teillichtstrahl  
39 Analysevorrichtung  
41 Prisma  
43 Lichtbündel  
45 Photodiodenzeile  
47 Verarbeitungseinheit  
49 PC  
51 Monitor  
53 Graph  
55 Achse  
57 Achse  
59 Computermouse  
61 gestrichelter Graph  
63 Vorrichtung zur Variierung der Leistung  
65 AOTF  
67 Slider  
69 konfokales Scanmikroskop  
71 Strahlteiler  
73 Scanmodul  
75 Scanspiegel  
77 Mikroskopoptik  
79 Objekt  
81 ausgehendes Licht  
83 Detektor  
85 Beleuchtungspinhole  
87 Detektionspinhole  
89 Mikrostruktur  
91 Glasinnenkanüle  
93 Glasstege  
95 Hohlräume  
97 zweiter Bereich  
99 erster Bereich  
101 Lichtleitfaser  
103 Faserkern  
105 Verjüngung

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Beleuchtung eines Objekts (79) gekennzeichnet durch folgende Schritte:
  - Einstrahlen (1) des Lichtstrahls (13) eines Lasers (9) in ein mikrostrukturiertes optisches Element (19), dass das Licht des Lichtstrahls (13) spektral verbreitert,
  - Formen (3) des spektral verbreiterten Lichts (31) zu einem Beleuchtungslichtstrahl (29) und
  - Richten (5) des Beleuchtungslichtstrahles (29) auf das Objekt (79).
2. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:
  - Auswählen mindestens eines Wellenlängenbereichs aus dem spektral verbreiterten Licht (31) und Richten des Lichts des ausgewählten Wellenlängenbereichs auf das Objekt (79).
3. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:
  - Einstellen der Leistung des spektral verbreiteten Lichts (31).

4. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:  
– Einstellen der spektralen Zusammensetzung des spektral verbreiterten Lichts (31).
5. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:  
– Einstellen der Polarisierung des spektral verbreiterten Lichts (31).
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Laser (9) ein Puls laser ist.
7. Verfahren nach Anspruch 6, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:  
– Einstellen der Pulsbreite des spektral verbreiterten Lichts (31).
8. Verfahren nach Anspruch 6, gekennzeichnet durch den weiteren Schritt:  
– Einstellen des Chirps des spektral verbreiterten Lichts (31).
9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Mikroskopie verwendet wird.
10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Endoskopie verwendet wird.
11. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Flußzytometrie verwendet wird.
12. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Chromatographie verwendet wird.
13. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Lithographie verwendet wird.
14. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren in der Videomikroskopie verwendet wird.
15. Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eines Objekts (79), dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung einen Laser (9) umfasst, der einen Lichtstrahl (13) emittiert, der auf ein mikrostrukturiertes optisches Element (19) gerichtet ist, dass das Licht des Lasers spektral verbreitert und dass dem mikrostrukturierten optischen Element (19) eine Optik (33) nachgeordnet ist, die das spektral verbreiterte Licht (31) zu einem Beleuchtungslichtstrahl (29) formt.
16. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eine Vorrichtung zur Variierung der Leistung (63) des spektral verbreiterten Lichtes (31) beinhaltet.
17. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eine Vorrichtung zur Variierung der Leistung (63) des spektral verbreiterten Lichtes (31) mindestens einer auswählbaren Wellenlänge oder mindestens eines auswählbaren Wellenlängenbereichs beinhaltet.
18. Vorrichtung (1) nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eine Fokussieroptik (15) beinhaltet, die den Lichtstrahl (13) des Lasers (9) auf das mikrostrukturierte optische Element (19) fokussiert.
19. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Laser (9) ein Puls laser ist.
20. Vorrichtung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eine Vorrichtung zur Variierung der Pulsdauer des spektral verbreiterten Lichtes beinhaltet.
21. Vorrichtung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) eine

Vorrichtung zur Variierung des Chirps des spektral verbreiterten Lichtes (31) beinhaltet.

22. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass mikrostrukturierte optische Element (19) aus einer Vielzahl von mikrooptischen Strukturelementen aufgebaut ist, die zumindest zwei unterschiedliche optische Dichten aufweisen.

23. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das mikrostrukturierte optische Element (19) einen ersten Bereich (99) und einen zweiten Bereich (97) beinhaltet, wobei der erste Bereich (99) eine homogene Struktur aufweist und in dem zweiten Bereich (97) eine Mikrostruktur (89) aus mikrooptischen Strukturelementen gebildet ist.

24. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Bereich (99) den zweiten Bereich (97) umschließt.

25. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das mikrostrukturierte optische Element (19) aus nebeneinander angeordnetem Glas- oder Kunststoffmaterial und Hohlräumen (95) besteht.

26. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die mikrooptischen Strukturelemente Kanülen, Stege (93), Waben, Röhren oder Hohlräume (95) sind.

27. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das mikrostrukturierte optische Element aus Photonic-Band-Gap-Material besteht.

28. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das mikrostrukturierte optische Element als Lichtleitfaser (23) ausgestaltet ist.

29. Vorrichtung nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleitfaser (23) eine Verjüngung (21) aufweist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) in einem Mikroskop verwendbar ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung (7) in einem konfokalen Scanmikroskop (69) verwendbar ist.

32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) in einem Flußzytometer verwendbar ist.

33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) in einem Endoskop verwendbar ist.

34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) in einem Chromatographen verwendbar ist.

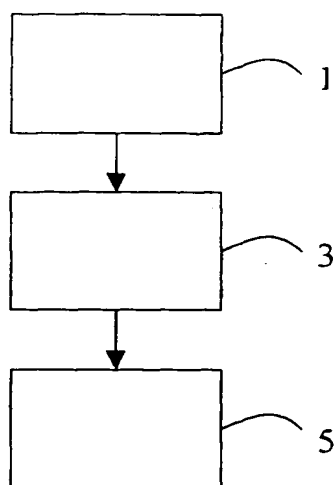
35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Beleuchtung (7) in einer Lithographievorrichtung verwendbar ist.

---

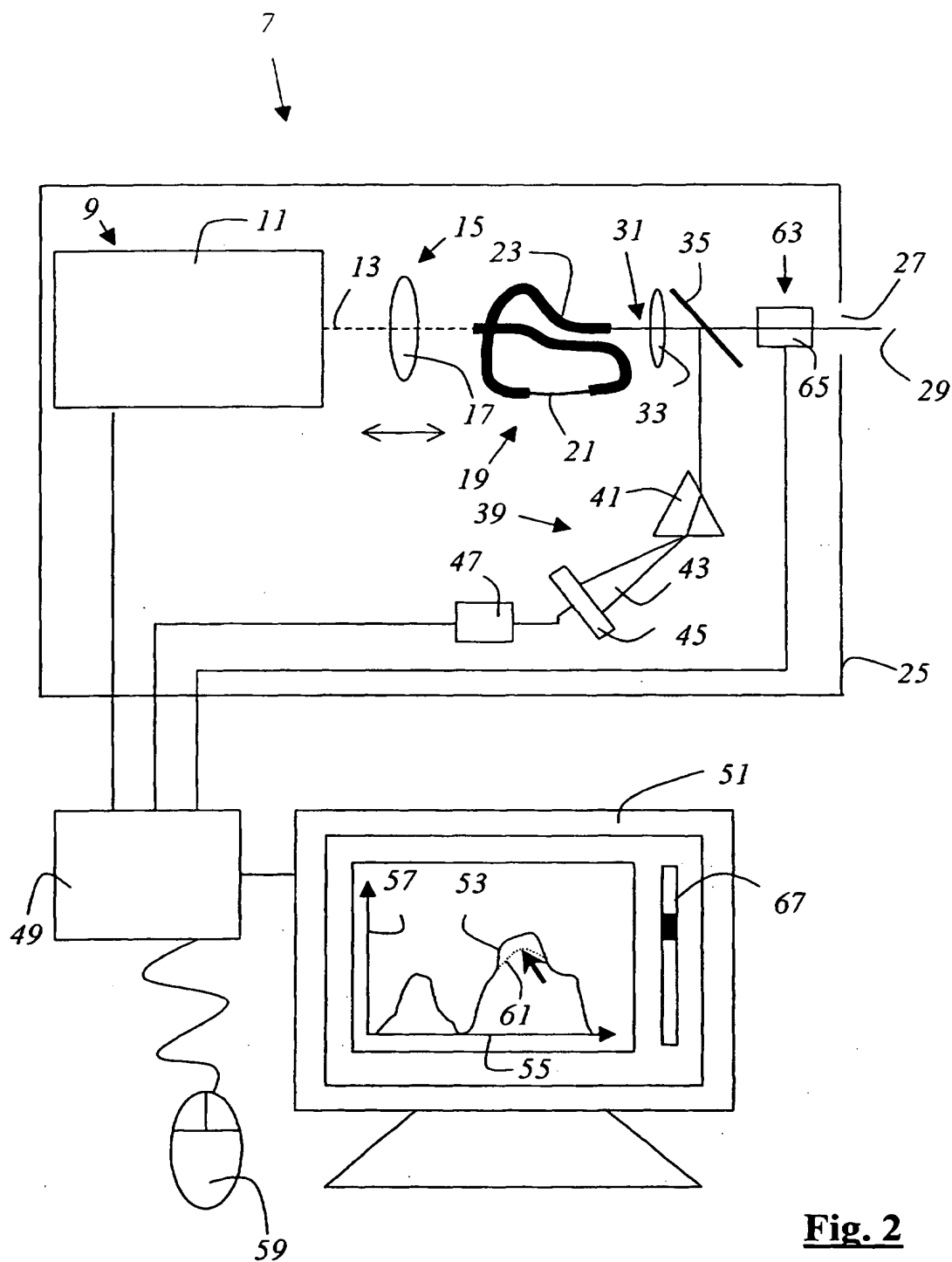
Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

---

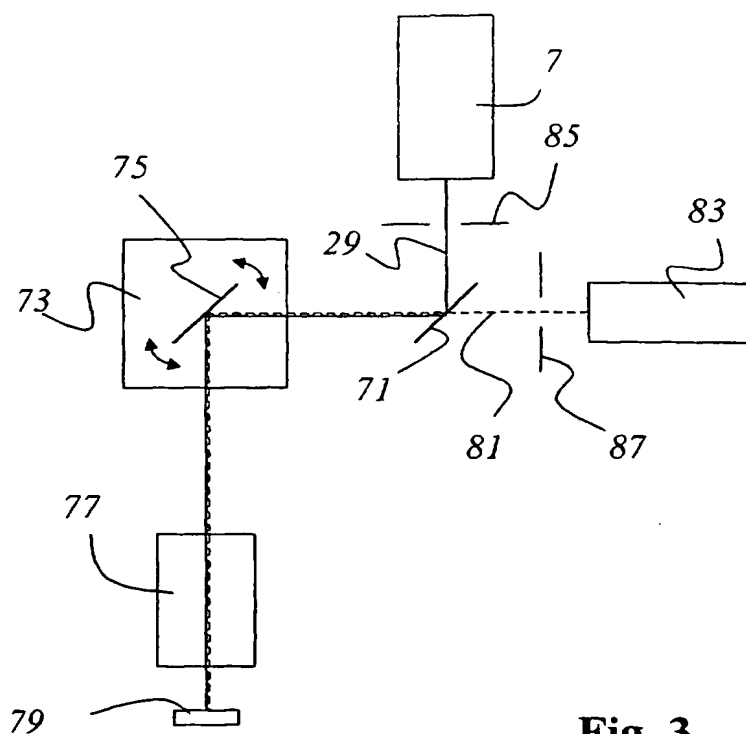




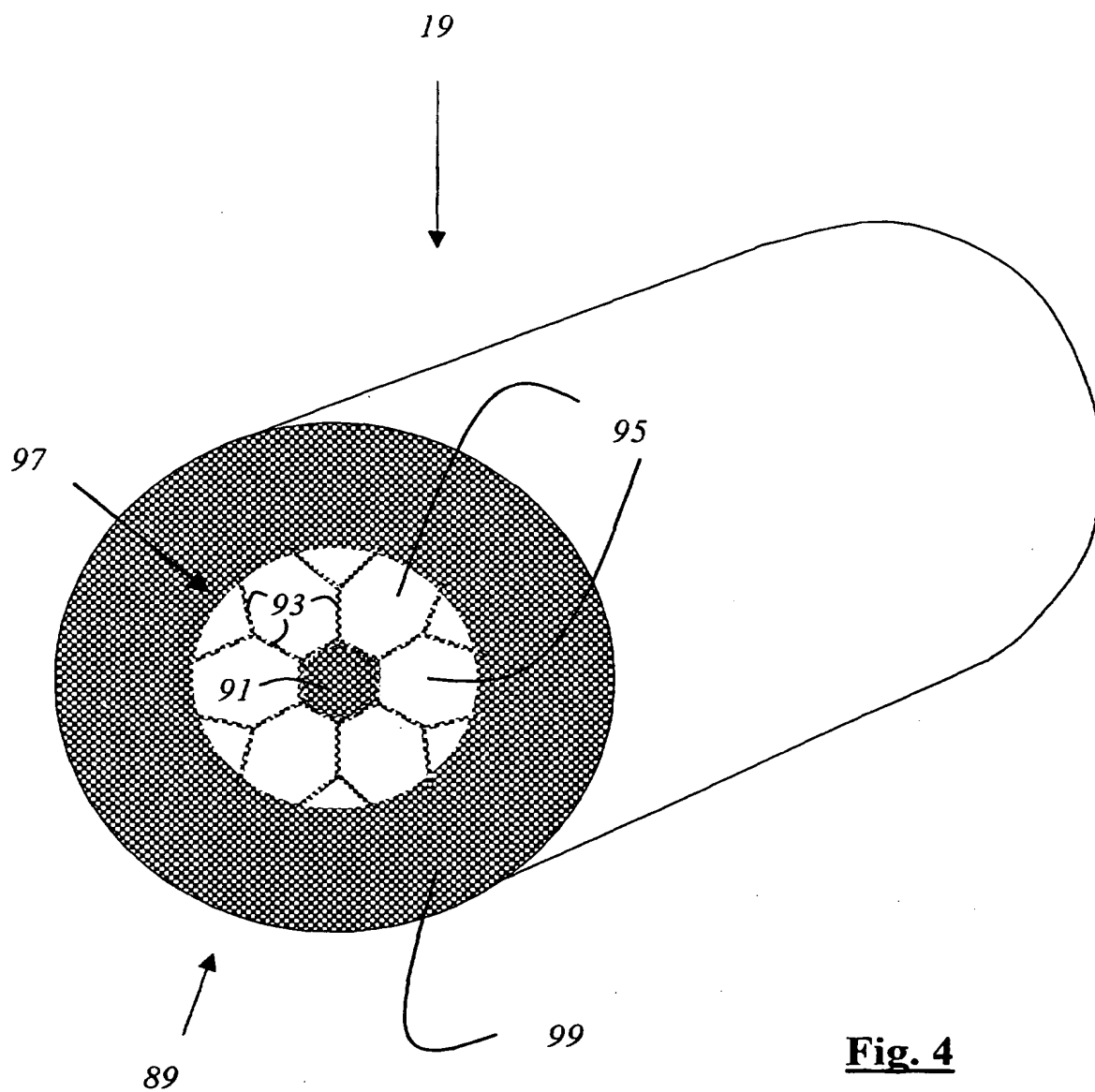
**Fig. 1**



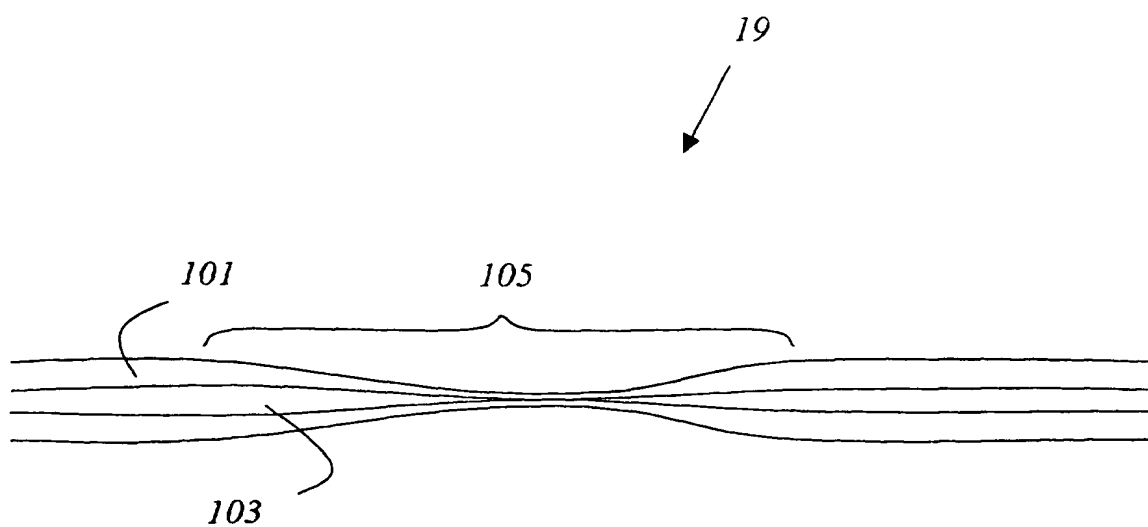
**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**



**Fig. 5:**

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**